

# 细胞膜绿色荧光染料 DiO

说明书修订日期: 2015.07.13

Cat number: KGMP003

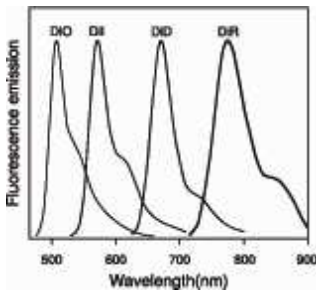
Store at -20°C for 12 months, 避光

For Research Use Only (科研专用)

## 一、产品描述

长链二烷基羰花青化合物, 特别是 DiI, 广泛应用于固定和非固定的组织与细胞中, 进行顺行或逆行的神经示踪分析。DiI 不会影响细胞的活力、生长以及基本生理特性。DiI 标记运动神经元, 可在培养基条件下持续跟踪长达四周, 在体内长达一年。染料通过在质膜中的缓慢横向扩散均匀标记神经元, 0.2~0.6mm/每天/固定标本, 在活体组织里, 可以达到 6mm/每天。经过醛固定的组织, DiI 的扩增可以持续长达 1~2 年。一般情况下未标记的染料不会向非标记的细胞转移, 除非质膜被破坏, 比如切片部位。

光谱特性



DiO, DiI, DiD, and DiR 结合磷脂双分子层的标准发射光谱图。

## 二、产品包装

组 份	Cat: KGMP003	储存条件
细胞膜绿色荧光染料 DiO	10mg	-20°C, 避光

## 三、操作说明

### 制备储液

固体染料以 DMF 或者 DMSO 或乙醇溶解配制为 1mM 的储液。对于 DiO (MW:882) 来说, 优选 DMF 作为溶剂。一旦制成的储液, 需避光冷冻, 储液形式可保存 6 个月。

### 标记悬浮细胞

- 1.1 以无血清培养基悬浮细胞密度为  $1 \times 10^6$  个/mL。
- 1.2 每 1mL 细胞悬液加入 5 $\mu$ L 细胞标记液, 混匀。
- 1.3 37 度孵育 1~20 分钟。不同的细胞类型所用的孵育条件不一样, 可参考表格 1.初始孵育时间可选择 20 分钟, 随后再进行优化。
- 1.4 37 度, 1500rpm 5 分钟离心标记悬浮液。
- 1.5 去上清, 用 37 度的培养基轻轻悬浮细胞。
- 1.6 重复两次以上的洗涤步骤。
- 1.7 放置 10 分钟后进行荧光测量。

### 标记贴壁细胞

- 2.1 培养细胞至所需的汇合度。

2.2 取出爬片，吸去培养基，放到盖玻片湿盒中。

2.3 准备标记，每 1mL 新鲜培养基中加入 5 $\mu$ L 的标记液。

2.4 吸取 100 $\mu$ L 盖玻片周围的染色介质，轻轻铺匀，使之盖满整个爬片。

2.5 37 度孵育细胞，不同的细胞类型所用的孵育条件不一样，可参考表格 1.初始孵育时间可选择 20 分钟，随后再进行优化。

2.6 去掉染色介质，用新鲜预热的培养基孵育 10 分钟，再更换以新的预热的培养基孵育 10 分钟，重复洗涤盖玻片三次。

表 1. 优化的细胞染色孵育时间

Cell Line	Optimal incubation time
Jurkat	2 minutes
HeLa	8 minutes
P3X	15 minutes
3T3	15 minutes

表 2. DiO, Dil, DiD and DiR 光谱特性

Tracer	Ex (nm)	Em (nm)	Optical Filters	
			Omega	Chroma
DiO	484	501	XF23	31001
Dil	549	565	XF32	31002
DiD	644	665	XF47	31023
DiR	750	780	XF112	41009